

新規除草剤“ブロモブチド”

嶺 昭彦 宝塚総合研究所農薬研究所 主任研究員
桐野 修 宝塚総合研究所農薬研究所 主任研究員
松本 啓志 宝塚総合研究所農薬研究所 副主任研究員
滝本 善之 宝塚総合研究所安全性研究所 主任研究員
磯部 直彦 宝塚総合研究所安全性研究所 副主任研究員

A New Herbicide, “Bromobutide”

Akihiko MINE (Takarazuka Research Center)
Osamu KIRINO (Takarazuka Research Center)
Hiroshi MATSUMOTO (Takarazuka Research Center)
Yoshiyuki TAKIMOTO (Takarazuka Research Center)
Naohiko ISOBE (Takarazuka Research Center)

Bromobutide is a novel herbicide found and developed by Sumitomo Chemical Co., Ltd. It provides a strong herbicidal activity against many kinds of annual and perennial paddy weeds including *Scirpus juncoides*, *Cyperus serotinus* and *Monochoria vaginalis* and some combinations with other herbicides to increase its efficacy are now being developed as rice herbicides.

In this review, the property of bromobutide will be described from various points of view such as screening trial, structure-activity relationships, chemistry, physicochemical properties, formulation, efficacy, practical applications, toxicology and environmental assessments.

はじめに

日本では、水稲用除草剤分野が、全除草剤販売高の約60%を占め、雑草防除の中心的存在である。その水稲用除草剤をとりまく状況は、最近、大きな変動の波にさらされている。

今まで長年にわたり、少数の主要除草剤による除草体系が組まれてきた。しかし、同一除草剤の連年施用により、従来の除草剤では効きにくいウリカワ、ミズガヤツリ、ホタルイなどの多年生難防除雑草の発生増加が目立ち始めた。一方、兼業農家を中心にさらに省力化農業指向が強まってきた。これらの状況に対応して、サンバード®、ウリベスト®といった新開発品をベースに、性能の極めて高い混合剤、いわゆる一発処理剤が上市され、年々、その使用が多くなってきた。

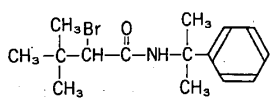
その状況を反映し、最近の除草剤の開発動向は、一発処理剤を狙って、剤の高性能化、混合剤化の方向に急速に進んでいる。このように水稲用除草剤市場は、除草体系の変遷を含め、大きく変わりつつある。この変化の時代

の要求に合致して、タイミングよく生まれつつあるのが、ブロモブチドである。

ブロモブチドは、第1表に示す化学構造式をもつ、新しい酸アミド系の除草剤である。本化合物は、研究当初将来の多年生雑草防除の重要性を考えてスクリーニングを開始し、コンピュータケミストリーからの知見を新除草剤の創製に応用して、効率よく研究を進め、見出したものである。

ブロモブチドは、水田の主要雑草であるホタルイに対

第1表 ブロモブチドの化学構造

構造式		1
商品名	スミハーブ®(Sumiherb®)	
一般名	ブロモブチド (bromobutide)	
試験名	S-47, S-4347	
化学名	(R,S)-2-ブロモ-N-(α,α-ジメチルベンジル)-3,3-ジメチルブチルアミド (R,S)-2-bromo-N-(α,α-dimethylbenzyl)-3,3-dimethyl butylamide	

し、特効的に強い除草効果を示す。さらにその効果はホタルイにとどまらず、ミズガヤツリ、クログワイ、ウリカワなどの多年生雑草にも活性を有する。実用的には、ノビエなどに対する効果をさらに増強するために、単剤ではなく、混合剤で開発を進めている。現在、多くのプロモブチド含有混合剤を試験しているが、その中で先行するいくつかの混合剤を、農薬登録申請中である。

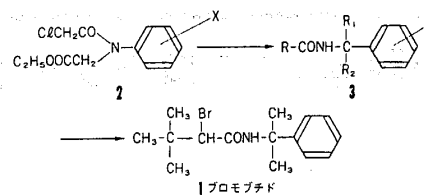
本稿では、プロモブチドに関して得られた研究成果の主なものを、スクリーニング研究の経緯、製法および分析法、物性・製剤、除草活性、毒性・代謝・残留の項目に分けて報告する。

スクリーニング研究の経緯

1. 新除草剤のデザイン

近年、新農薬に要求される活性や安全性の水準は、これまでとは比較にならないほど高く、新農薬開発の成功率は大幅に低下してきている。要望度の高い多年生雑草用除草剤の創製も、従来の除草剤の普及による一年生雑草の防除に伴って優先化した、防除困難な多年生雑草を標的とするだけあって、既知構造からの類推や試行錯誤による構造修飾のみでは、極めて成功率の低いことが予想される。当研究所では、新農薬のデザインを効率良く行なうために、以前からコンピュータを用いた種々の構造活性相関解析手法、特に化合物の物理化学的性質と生物活性との関係を明確に把握できる Hansch と藤田の方法^{1, 2)}を、スクリーニング研究に取り入れてきた。そして、解析結果を詳細に検討するなかで、化合物の立体的性質の重要性に関する知見を得た。そこでこれを、生物検定が開始された多年生雑草用除草剤の開発に応用しようとしたのである。

かつて、アミノニトリル類がフザリウム性土壌病害に卓効を示すことを見出し³⁾、定量的構造活性相関解析を行なったところ、窒素置換基が立体的にかさ高くなればなるほど防除効果は高くなることがわかった⁴⁾。そして、作用機作の研究^{3, 5)}などから、窒素置換基の立体的かさ高さは化合物の分解防止と関係し、かさ高さの増加に伴う安定性の増大が重要であることが示唆された。また、クロロアセチルアミド型除草剤の一種であるエチル *N*-クロロアセチル-*N*-置換フェニルグリシネート 2 の相関解析では、ベンゼン環のオルトおよびメタ置換基ともに、立体的かさ高さが増すほど活性は高くなることが明らかとなった⁶⁾。これは、作用部位到達までの輸送の過程における化合物の代謝分解からの防御が、作用部位での反応性に対する効果よりも重要であることを意味している。



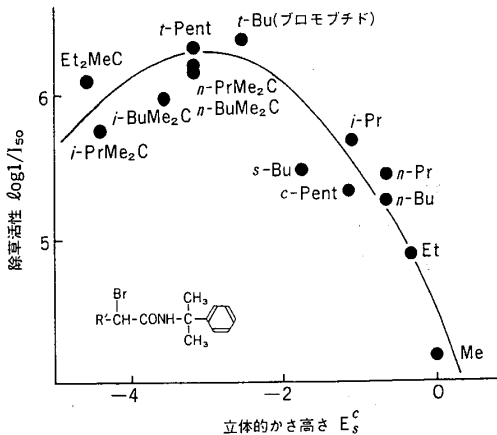
第1図 プロモブチドへの経路

多年生雑草の防除は、地上部の枯殺だけでは不十分であり、地中深部に存在する根茎にまで作用し、その繁殖を阻止しなければならない。この場合、作用部位到達までの過程はより長く複雑となり、土壌中あるいは植物体中における化合物の分解の機会が増大することが予想される。従って、多年生雑草用除草剤のデザインでは、これまで以上に安定性に対する配慮が必要となるであろう。そこで、除草剤に類例が多く、クロロアセチルグリシネート 2 の部分構造でもあるアミドを除草活性の期待できる基本骨格として選び、安定性と作用部位との反応性を置換基の立体的かさ高さによって制御し、多年生雑草に有効な除草剤を創製しようと考えた。そして、第1図の一般式 3 で示されるアミドの酸部位およびアミン部位置換基の立体的かさ高さを増す方向で構造修飾を続け、*N*-ベンジルブタンアミド類に多年生雑草に対する除草活性を認め⁷⁾総合評価の結果、プロモブチド 1^{8, 9)}を選抜するに至ったのである。

2. 化学構造と除草活性

(1) 酸部位の変化と除草活性との関係

N-ベンジルアシルアミド 3 の酸部位が種々変化した、限定された数の化合物群の置換基変化と、バイアル試験におけるイヌホタルイに対する除草活性との関係を解析すると、さらにかさ高い置換基の導入により、まだ活性の増大が期待できることがわかった¹⁰⁾。そこで、さらにかさ高い置換基を有する化合物を合成し解析を行なったところ、第2図に示したように立体的かさ高さに最高値が存在することを認めた¹¹⁾。立体的かさ高さを表わすパラメータとして、コンピュータで容易に計算できる置換基の結合軸に垂直な方向の幅を用いた最終解析から、除草活性は置換基の最小幅に対して放物線的に関係し、最適値 (2.31Å プロモブチド 1.91Å) が存在する¹²⁾。また、最大幅は大きいほど活性に好都合である。除草活性は、置換基の疎水性に対しても放物線的に関係し、最適 π 値 (2.18, プロモブチド 2.26) が存在する¹²⁾。これらは、アミド部分の分解防止に及ぼす分子内立体効果、作用部位との立体的および疎水の相互作用、作用部位到達までの輸送の過程などが存在するものとして理解できる。

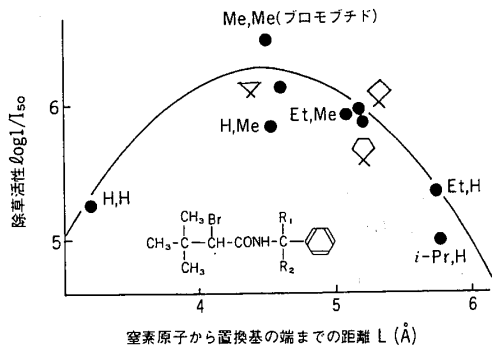


第2図 酸部位置換基の変化とイヌホタルイに対する除草活性との関係¹¹⁾

ブロモブチドの物理化学的性質は、計算される最適値に近く、高活性であることが構造活性相関研究からも確認される。ポット試験におけるハマスゲに対する除草活性でも、酸部位置換基の立体的かさ高さは重要で、 α -ハロアルキル体の活性は同じかさ高さのアルキル体の活性より特異的に低下することも明らかとなっている¹³⁾。

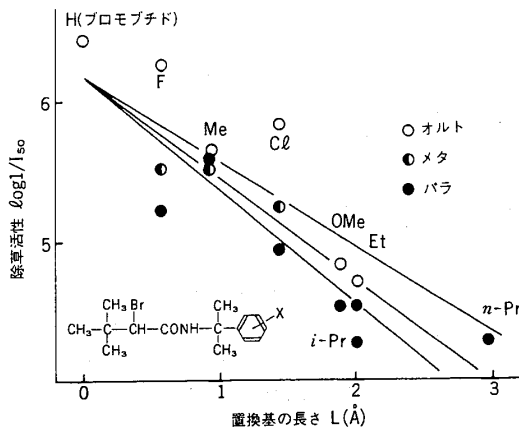
(2) アミン部位の変化と除草活性との関係

ベンジルアミン部位の α 位置換基の変化とイヌホタルイに対する除草活性との関係は、第3図に示したように分子力場法計算で求めた窒素原子から置換基の端までの距離に放物線的に関係し、最適値(4.45Å, ブロモブチド4.51Å)が存在する¹²⁾。これは、作用部位とアミド部分との水素結合や特定の分子の形が、高活性発現に重要であることを意味している。また、ベンゼン環置換基については第4図に示したように、オルト、メタ、パラいづれの置換位置においても置換基の結合軸方向の長さが



第3図 アミン部位 α 位置換基の変化とイヌホタルイに対する除草活性との関係¹²⁾

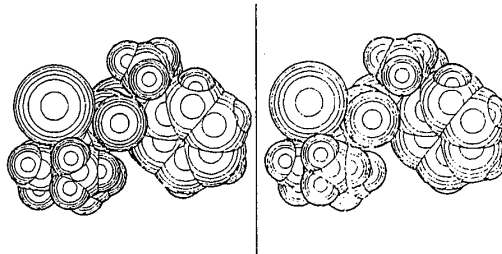
長くなるほど活性は減少し、高活性発現にはベンゼン環は置換されていないほうが好ましいことが判明している¹⁴⁾。ハマスゲに対する除草活性では、*p*-メチル体あるいは*p*-エチル体が高活性を示す¹³⁾。



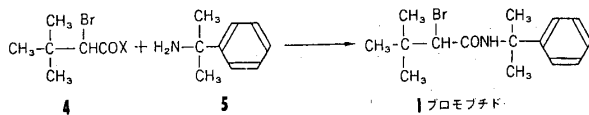
第4図 ベンゼン環置換基の変化とイヌホタルイに対する除草活性との関係¹⁴⁾

(3) 光学異性体の除草活性と立体構造

ブロモブチドは酸部位に不斉炭素有し、二種の光学異性体が存在する。また、 α -モノメチルベンジルアミン誘導体ではアミン部位も不斉となり、合計四種の光学異性体が存在する。各種の光学異性体を合成し除草活性を調べたところ、酸部位は*R*配置が、アミン部位も不斉の場合アミン部位は*S*配置が活性に好ましいことがわかった^{15, 16)}。第5図は、X線解析結果に基づき、当社と日本電気との間で共同開発されたコンピュータケミストリーシステム、ACACSにて作図したブロモブチドの*R*型の立体図である。ブロモブチドの結晶構造は、分子のほぼ中央にアミドのカルボニル基とアミノ基が位置し、比較的滑らかな形をしている。そして、カルボニル基の酸素原子と窒素原子に結合した水素原子とに、分子間水素結合が認められている¹⁵⁾。



第5図 ACACSによるブロモブチド*R*型の立体図



第6図 プロモブチドの製法

以上のような構造活性相関に加え、製造方法、作用性圃場試験結果等を総合的に評価し、プロモブチドが選択されたのである。

製法および分析法

1. 製法

プロモブチドはアミドの一種であって、第6図に示したように酸とアミンとの反応により製造される。

種々検討の結果、*t*-ブチル酢酸^{17,18)}の酸ハロゲン化と臭素化によって得た臭素化酸ハロゲン化物4と α 、 α -ジメチルベンジルアミン¹⁹⁾5を反応させて高収率高純度のプロモブチドを得る製法が確立されている²⁰⁾。

2. 分析法

プロモブチドは、充填剤としてOV1 5%、内部標準物質としてフタル酸ジブチルを用いるFID型ガスクロマトグラフ法により、精度良く定量される²¹⁾。また、原料、中間体あるいは製品中の不純物についての分析法も確立されている²¹⁾。

物性・製剤

1. 物性

プロモブチド原体は、無臭の白色ないし黄色の結晶性粉末であり、融点は180.1°Cである。その物性は第2表に示す通りである²²⁾。水に対する溶解度は、25°Cで3.54 mg/ℓであり、有機溶媒には、ジメチルスルホキシド、

第2表 プロモブチド原体の物性

外觀	白色ないし黄色の結晶性粉末
風潮解性	なし
融点	180.1°C (溶け終り)
比重	d_4^{25} 1.33
引火点	180°C (クリーブランド開放式)
発火温度	390°C (発火おくれ時間5秒)
爆発性	粉塵爆発下限界40mg/ℓ
燃焼性	6,580 cal/g
溶解性	水溶性3.54mg/ℓ (25°C)
	10g/ℓ (26°C)未満…キシレン、デオベース、 <i>n</i> -ヘキサ
	ン、カワカゾール
	10~49g/ℓ …エチルセロソルブ、酢酸エチル、アセ
	トニトリル、メタノール、アセトン、メチ
	ルイソブチルケトン
	50~99g/ℓ …シクロヘキサノン、クロロホルム、
	ジメチルスルホキシド
	100~199g/ℓ …ジメチルホルムアミド

シクロヘキサノン、クロロホルムに50~99g/ℓ、ジメチルホルムアミドには100g/ℓ以上溶ける。

蒸気圧は、GC法により200-275°Cで実測して外挿すると、20°Cで 3.47×10^{-4} mmHg、25°Cで 5.57×10^{-4} mmHgである。

2. 安定性

プロモブチド原体は、熱に対して安定であり、60°Cで6ヶ月保存ではほとんど分解せず、12ヶ月で数%分解するにすぎない。光安定性としては、300nm以下の紫外部では分解するが、可視部の光線照射ではほとんど分解しなかった。

プロモブチドの各種溶剤および無機担体中での安定性を第3表に示した²²⁾。有機溶媒では、エチルセロソルブ、

第3表 プロモブチドの各種溶剤および無機担体中での安定性

安定性	溶剤(有効成分1%)	無機担体(有効成分8%)
安定	キシレン、メタノール アセトン、シクロヘキサノン 酢酸エチル、アセトニトリル プロピオン酸、ジメチルホルムアミド	カーブックス#80、ラジオリイト200 セリサイトA、フバサミクレーA-300 タルクSW、ベントナイト 酸性白土NA、エスカロン#100
やや不安定	メチルイソブチルケトン クロロホルム	
不安定	エチルセロソルブ	

クロロホルムおよびメチルイソブチルケトン中で不安定あるいはやや不安定のほかは安定であり、またほとんどの無機担体中で安定であった。

3. 製剤

プロモブチドは、現在のところ単剤では上市予定はなく、他の除草剤との混合剤で水稲用除草剤としての開発が進められている。

代表的な混合剤は、サリオ®粒剤(プロモブチド5%+ピラゾレート7%)、ノックワン®粒剤(プロモブチド5%+ピラゾキシフェン7%)、シンザン®粒剤(プロモブチド4%+メフェナセット3.5%+ナプロアニリド7%)である。混合剤によっては、プロモブチドの結晶が粒剤の表面に析出しやすいものもあり、それを防ぐために工夫がなされている。

水稲用除草剤は粒剤が主流であるが、混合剤によっては液剤の検討も行なっている。

除草活性

1. 効力

(1) 殺草症状

プロモブチドは、いずれの雑草に対しても雑草の発芽

前に処理した場合、雑草の発芽は阻害せず、発芽以降の生育を抑制し、徐々に雑草を枯死に至らしめる。すなわち、雑草の子葉（鞘葉）の展開および生長はプロモブチド処理で強い影響を受けないが、第1葉以降の葉の展開および伸長は強く阻害され、第3ないし第4葉ではその展開が認められない。雑草はこのような生育抑制の症状を呈しながら徐々に枯死してゆく。生育期にプロモブチドを処理した雑草では、既に展開している葉は大きな影響を受けないが、処理後新たに展開する葉は強い阻害を受け、発芽前処理の場合と同様、生育を抑制された状態の後、枯死に至る。

このように、プロモブチドの殺草症状は、無処理雑草の生育が進むにつれて顕著になってゆくものであり、比較的遅効的に現われてくる。また、処理時期を問わず、発根阻害力の強いことも、プロモブチドの殺草症状のひとつとしてあげられる。

(2) 殺草スペクトル

プロモブチドは主に水田雑草に強い活性を示す。第4表に示すように、発芽前または発芽始期の処理で、プロモブチドはノビエ、コナギ、イヌホタルイおよびウリカワなどの雑草を20g/a以下の薬量で枯殺した。生育期の処理でも、多くの雑草に対し、処理以降の生育を強く抑制する作用を示し、水田用除草剤として殺草スペクトルの広いことが示された^{23,24)}。

畑地雑草に対しては、多年生雑草であるハマスゲ（カヤツリグサ科）に対する効果がすぐれていることが明らかとなっている¹⁶⁾。

(3) 有用性

プロモブチドは、室内試験だけでなく、実際圃場においても多くの雑草に対すぐれた効果を示す。特に、既

存の除草剤では完璧な防除が困難であるイヌホタルイに対する効果は極めて高く、これはプロモブチドの実用上の特長のひとつとなっている。さらに、難防除雑草に指定されているミズガヤツリおよびクログワイに対する効果のあることもプロモブチドのすぐれた長所である。また、プロモブチドは、従来の体系処理では容易に防除されていたものの、除草剤の変遷により問題となりつつあるコナギにもすぐれた効果を有している。

このように、プロモブチドは現在問題となっている、あるいは今後問題となりそうな数種の雑草に対し実用性を有しているが、ノビエおよびウリカワに対する実用効果は十分でない。このため、これらの雑草の防除も可能となるような混合剤のかたちで、プロモブチドの開発は進められてきている。混合の際の相方の除草剤との相性は一般に良好であり、たとえば、ジフェニルエーテル型除草剤との混合のように、顕著な相乗効果を認める場合もある（第7図）²⁵⁾。

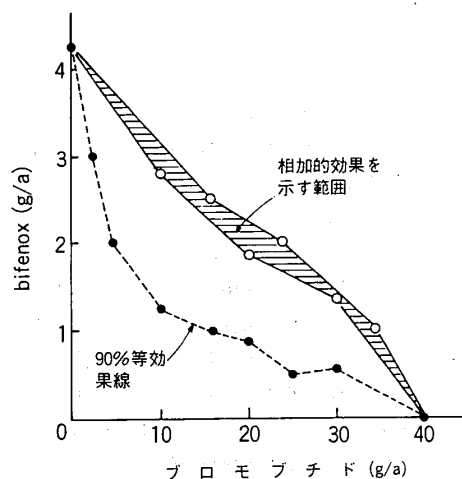
(4) 効力の安定性

除草剤に要求される重要な資質のひとつに、どのような条件下でも効力を安定して発揮できることがあげられる。以下にプロモブチドの作用特性に関する試験結果の

第4表 プロモブチドの主要水田雑草に対する効果（室内試験）

雑草名(科)	完全枯殺薬量		80%生育抑制薬量
	発芽前処理	生育中期処理	生育中期処理
ノビエ(イネ科)	10~15g/a	15~25g/a	5~20g/a
コナギ(ミズアオイ科)	2~5	5~10	5
アゼナ(ゴマノハグサ科)	10~15	25~40	20
アブノメ(ゴマノハグサ科)	25~40	40<	40<
キカシグサ(ミソハギ科)	15~20	25~40	10~20
ミソハコベ(ミソハコベ科)	25~40	40<	40<
イヌホタルイ※(カヤツリグサ科)	1~2	2~5	1
マツバイ※(カヤツリグサ科)	5~10	10~15	2~5
クログワイ※(カヤツリグサ科)	10~20	40<	10~30
ミズガヤツリ※(カヤツリグサ科)	10	40<	10~30
ウリカワ※(オモダカ科)	15~25	40<	10~30

※ 多年生雑草



両剤間の効果が相加的なものと仮定した場合のタイユビエの生育（地上部風乾重）を90%抑制するのに必要な薬量の組合せを、両剤の薬量反応曲線より推定し—○—○—○—で示した。

一方、実際に生育を90%抑制した薬量の組合せを—●—●—●—で示した。

したがって、—○—○—○—と—●—●—●—との隔たりが大きいほど相乗効果の程度が強い（千坂、1973の方法⁷³⁾。

77図

第5表 プロモブチドの処理部位*と活性**との関係

植物名	施用量 (g/a)	処理部位		
		全層	上層	下層
イネ	50~300	+	-	+
ノビエ	50~300	≡	-	+
ミスガヤツリ	50~300	≡	+	≡
ハマスゲ	50~300	≡	-	-

* 上層：幼芽部処理、下層：根部処理
 ** ≡ (活性強い) ~ (活性なし)

第6表 プロモブチドのイヌホタルイに対する処理時期別の効果* (室内試験)

供試剤	処理時期 (播種後日数)	施用薬量 (g/a)						
		40	20	10	5	2.5	1.3	0.63
プロモブチド	発芽前(1)	-	-	-	5	5	4	1
	0.5~1葉期(4)	-	-	-	5	5	3	0
	1.5 ♪ (7)	-	-	5	5	4	2	-
	2.5 ♪ (9)	-	-	5	5	3	0	-
	3 ♪ (11)	-	5	4	4	3	-	-
	4 ♪ (15)	-	4	4	4	3	-	-
	花茎抽出期(19)	4	4	4	3	-	-	-
比較剤	発芽前(1)	-	-	-	5	2	1	0
	0.5~1葉期(4)	-	-	-	3	1	0	0
	1.5 ♪ (7)	-	-	3	1	0	0	-
	2.5 ♪ (9)	-	-	3	0	0	0	-
	3 ♪ (11)	-	4	3	1	0	-	-
	4 ♪ (15)	-	4	3	1	0	-	-
	花茎抽出期(19)	4	1	0	0	-	-	-

* 5：完全枯殺～0：無効

一部を紹介し、効力の安定性との関係について述べる。

①吸収部位 処理層別試験において、プロモブチドは、雑草の幼芽部よりも根部に処理された場合の方が、強い活性を示した(第5表)²⁶⁾。また、¹⁴C-プロモブチドを用いた水耕法による試験では、根部からの吸収の多さが示された²⁷⁾。

②土壌移行性 土壌カラムを用い、ガスクロマトグラフィによる定量を行なった試験では、プロモブチドの移行は畑、水田いずれの条件下でも3 cm程度の深さまで認められた^{24, 26)}。同様の方法で実施したブタミホスの試験結果と比較した場合、プロモブチドの土壌移行性は大きく、プロモブチドは適度の土壌移行性を有する除草剤といえよう。

③残効性 温室内のポットにプロモブチドを所定量処理した後、経時的に検定植物(イヌホタルイ)を播種してゆき、残効期間を調べたところ、60日以上残効期間を示した²⁸⁾。また、ガスクロマトグラフィによる定量で室内条件下でのプロモブチドの半減期を推定したところ、水田条件で約6週間、畑条件では約10週間であった²⁶⁾。これらの結果はプロモブチドが残効性にすぐれた除草剤であることを示している。

④処理適期 発芽前～花茎抽出期の各生育ステージのイヌホタルイにプロモブチドを処理し、その効果を調べた。生育ステージが進んだ場合ほど除草効果は低下するものの、低下の程度は少なく、花茎抽出期のイヌホタルイにも効果は認められた(第6表)^{24, 26)}。このように、プロモブチドの処理適期の幅はかなり広いといえる。

⑤発生深度別効力 イヌホタルイ種子を0.4～4 cmの各深度に播種し、発生深度と除草効果との関係について調べた。その結果、プロモブチドは最深部より発生してくる雑草にも有効であった(第7表)²⁶⁾。

第7表 プロモブチドのイヌホタルイに対する発生深度別の効果* (室内試験)

供試剤	発生深度 (mm)									
	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40
プロモブチド (10g/a)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
比較剤 (10g/a)	0	0	0	0	8	25	100	100	100	100

* 風乾重の対無処理区%比

以上の試験結果に示した諸特性により、プロモブチドは、次に述べるように、除草剤の圃場における多数の効力変動要因の幾つかを克服できると考えられる。

プロモブチドは残効期間が長いので、処理時に未発生雑草の雑草に対しても効力を発揮することが期待される。また、処理適期幅が広いので、処理時に生育の進んだ雑草が混在している条件下でも除草効果の低下は少ない。

さらに、プロモブチドは、一般に除草剤が効きにくい発生深度の深い雑草に対しても、適度の土壌移行性および残効性により、すぐれた効果を示す。

また、水田用除草剤では、処理時以降の圃場の水深は除草効果に大きく影響しやすい。そして吸収部位が幼芽部、茎葉部に限定される接触型除草剤ほど水深の変動による効力の低下を受けやすい。しかしプロモブチドは根部からも容易に吸収され、かつ適度の土壌移行性を有するので、水深による効力の変動は少ないと考えられる。

以上述べたように、プロモブチドは、圃場における効力の安定性にすぐれた除草剤である。そして、この点こそプロモブチドの最大の特長であろう。

2. 薬害

プロモブチドのイネに対する薬害が生じた場合の症状は、通常、新葉の展開遅延による生育抑制である。また、まれに、イネの葉の撓水性が低下することによる葉の下垂症状が認められている²⁹⁾。この症状は豪雨による極端な深水条件により助長される。

プロモブチドは、雑草と同様、イネにおいても根から吸収されるので、葉害はイネの根と薬剤とが接触しやすい条件下で発生する可能性が高くなる。即ち、イネの挿苗深の浅い場合、圃場の漏水の多い場合、イネの移植前に処理された場合などがこの条件に該当しよう^{30, 31)}。イネの品種、土壌の還元程度などと葉害との間には明確な関係は見出されず、これらの影響は少ないものと考えられる^{30, 31)}。

なお、プロモブチドのイネ-雑草間の選択性は元来、高いものであり、シャーレ試験による感受性の比較では、イネ-ノビエ間で30倍、イネ-イヌホタルイ間では100倍ほどの選択性が認められている³²⁾。従って通常の条件下では、プロモブチドのイネに対する葉害は問題ないと思われる。

3. 選択性および作用機作

プロモブチドに耐性のイネ、感受性のイヌホタルイおよび中程度の感受性のノビエを用い、水耕法により¹⁴C-プロモブチドの吸収、移行および代謝について検討した。その結果、根部処理によりプロモブチドはいずれの供試植物にも良く吸収され、莖葉部への移行および蓄積量も経時的に増加していった。また植物体中での代謝様式も、植物間で顕著な差は認められず、吸収、移行、代謝の差によりプロモブチドの選択性を説明することはできないと考えられた²⁷⁾。作用部位とプロモブチドの相互作用における植物間差異が選択性に関与している可能性が考えられるが、詳細については今後検討してゆきたい。

作用機作に関しては、プロモブチドは光合成および呼吸に対しては、少なくとも一次的な影響を与えないことが示されているが、それ以外はまだ明らかでない。プロモブチドの殺草症状を観察すると、発芽前処理の場合、多くの植物において子葉(鞘葉)、第1葉、第2葉…の順に伸長抑制の影響を受けにくい。即ち、発芽時に未分化の状態にある器官ほどプロモブチドの影響を受けやすい。このことはプロモブチドが若い細胞ひいては分裂組織の細胞に何らかの影響を与えることを示唆しており、実際にソラマメ根端の細胞分裂を調べると、本剤処理により細胞分裂は強く阻害されていた³²⁾。またプロモブチドの過剰吸収により、イネの葉に撥水性の低下が認められるという葉害試験の結果およびプロモブチドと接触型除草剤であるジフェニルエーテル剤との間に相乗効果が認められるという試験結果²⁵⁾等は、本剤の葉に対する何らかの影響も示唆している。そして これらの中にもプロモブチドの作用機作解明の手がかりが含まれていると考えられる。

4. 適用作物と使用方法

前節で述べたように、プロモブチドは、単剤処理ではノビエ、アブノメ ミゾハコベなどの雑草に除草効果が不足するため、主にヒエに有効な剤との混合剤で開発が進められている。プロモブチドは、①現在、ノビエに次いで発生面積の多い問題雑草であるホタルイに特効的によく効くこと、②殺草スペクトルが広く、特に多年生雑草のミズガヤツリ、クログワイ、ウリカワなどにも活性を有すること、③ホタルイ防除の処理適期幅が広いこと、④イネに対する安全性が高いこと、⑤混合相手によっては相乗効果もあり相性がよいこと²⁵⁾、などの理由で、混合剤の素材として優れた性質を有している。そのため、混合相手として人気があり、現在、プロモブチドを含む混合剤が20剤近くも試験、検討されている。

数多く検討されている混合剤のうち、先行して農薬登録申請中の3混合剤の適用雑草、使用方法の範囲を第8表に示した。

サリオ®粒剤は、プロモブチド5%とピラゾレート7%を有効成分とし、ノックワン®粒剤は、プロモブチド5%とピラゾキシフェン7%を含有する粒剤で、ともに作用性はよく似ている。いずれの剤も、一年生雑草、ウリカワ、ホタルイ、ミズガヤツリなどの多年生雑草を含む多くの種類の雑草に有効なことが特徴の一つである。現在多く使用されている、いわゆる一発処理剤であるクサカリン®(ブタクロール+ピラゾレート混合剤)に比べると、ホタルイなどのカヤツリグサ科雑草により効果が高く、また、イネ葉害もより小さいという特徴がある。

しかし、ノビエに対する処理適期幅は比較的狭いので、田植後できるだけ早い時期に処理することが望ましい。なお、ノックワン®粒剤は、近畿地方以西において一発処理剤として実用性ありとの判定を受けており、また、サリオ®粒剤も一発処理剤としての試験を実施中である。一方、イネに対しては、両薬剤とも安全性は高く、通常条件では葉害の恐れはない。しかし、軟弱苗の植えつけ、極端な深水、砂質土壌、異常高温などの悪条件がいくつも重なると、葉害がでる可能性があるので注意を要する。

シンザン®粒剤は、ノビエに効果の高いメフェナセットと、ウリカワ、広葉雑草に効果の高いナプロアニリドに、ホタルイ、ミズガヤツリなどに活性の強いプロモブチドを配合した強力な剤である。本剤は、第8表に示すように、多年生雑草を含む種類の雑草に防除効果が高いとともに、ノビエの2-2.5葉期まで有効と処理適期幅が広いという大きな特徴があり、初中期一発処理剤として、その優れた性能が実用的に期待されている。イネに対しては、処理方法を守れば安全であるが、砂質土で減水深の大きな圃場の場合、浅植えなどで薬剤が根に接

触すると薬害がでやすくなるので注意を要する。

以上述べた3つの混合剤の試験例を、日本植物調節剤研究協会の試験成績概要より、いくつか抜粋して第9表に示した³³⁾。

海外においても、主に水稲用として、単剤あるいは混合剤の試験が実施されつつあるが、海外での使用に関してはまだ検討の余地が大きい。

代謝・残留・毒性

新農薬の開発に当っては、ヒトおよび環境に及ぼす影響を事前に十分評価し、安全性を明らかにしておかねばならない。このためプロモブチドについて、哺乳動物に

おける代謝、各種毒性試験、環境における代謝、分解、残留毒性試験等が実施された。プロモブチドの場合、主に水田条件下で生成する deBr-プロモブチド〔N-(α, α -dimethylbenzyl)-3,3-dimethylbutyramide〕がイネに取り込まれ、玄米中に親化合物より若干多く残留することが明らかになったため、deBr-プロモブチドに関する安全性についても十分な評価をするための研究を実施した。また、プロモブチドは水田に施用される除草剤であるため、田面水の落水による水糸生態系に及ぼすプロモブチドとその分解物の影響について詳細に研究した。以下にこれらの試験および研究の概要と結果を示す。

1. 環境中での挙動 (第8図) (1) 土壌中での分解³⁴⁾

酸化還元電位が+300mV以下の還元状態である3種類の土壌に、水田条件下で¹⁴C標識体を土壌に対し約3ppmの割合で添加し、プロモブチドの分解をみた。プロモブチドは徐々に分解され、半減期は25日~54日であった。

第8表 プロモブチド混合剤の適用範囲概要(日植調中央判定)

除草剤名	適用作物	適用雑草	使用時期	使用方法
サリオ®粒剤 (プロモブチド5% ピラゾレート7%)	移植水稲	水田一年生雑草、マツバイ、ホタルイ ウリカワ、ヘラオモダカ、ミズガヤツリ ヒルムシロ	移植後3~8日 (ノビエ1.5葉期まで)	湛水散布 (土壌処理)
ノックワン®粒剤 (プロモブチド5% ピラゾキシフェン7%)	"	"	移植後3~8日 (ノビエ1~1.5葉期まで)	"
シンザン®粒剤 (プロモブチド4% メフェナセツト3.5% ナプロアニリド7%)	"	"	移植後5~15日 (ノビエ2~2.5葉期まで)	湛水散布 (茎葉兼土壌処理)

第9表 プロモブチド混合剤の水稲作除草試験³³⁾

除草剤名	試験場所 (試験年)	処理時期	施用量 (製g/a)	残草量対無処理区比(%)								イネ 薬害
				ノビエ	カヤツリ グサ	コナギ	広 葉 雑 草	マツバイ	ホタルイ	ウリカワ	ミズガ ヤツリ	
サリオ®粒剤 (S-473Ⓒ)	宮城農業センター (昭和60年)	(無処理区)	0	(38.9)	(0.1)	(t)	(2.2)	(0.6)	(8.6)	(0.3)	(6.7)	無 無 無
		+3(雑草発生前)	300	2	0	0	t	t	1	t	7	
		+5(ノビエ発生前)	300	3	0	0	1	2	t	t	10	
		+8(ノビエ1葉期)	300	7	0	0	t	t	t	t	13	
	香川農試 (昭和60年)	(無処理区)	0	(406.8)	(3.0)	(45.4)	(21.4)	(0)	(7.8)	(2.6)	(20.1)	無 無 無
		+3(ノビエ発生前)	300	t	0	0	1	—	0	0	t	
+6(ノビエ1葉)		300	t	0	0	t	—	0	0	2		
ノックワン®粒剤 (SL-495)	栃木農試 (昭和60年)	(無処理区)	0	(27.2)	(0.7)	(1.2)	(6.0)	(8.9)	(1.3)	(2.6)	(29.3)	無 無 無
		+3(雑草発生前)	300	0	0	0	t	1	0	4	4	
		+6(ノビエ1~1.2葉)	300	3	0	0	0	6	0	4	2	
		+8(ノビエ1.5葉)	300	4	0	0	8	1	t	4	6	
	大分農業技術センター (昭和60年)	(無処理区)	0	(207.7)	(2.9)	(1.1)	(14.8)	(0)	(63.9)	(1.9)	(42.4)	無 無 無
+3(発生前)		300	t	0	0	10	—	0	0	2		
+5(ノビエ始~1.2葉)		300	0	0	0	6	—	0	0	3		
シンザン®粒剤 (NTN-831)	福島農試 (昭和59年)	(無処理区)	0	(>6.5)	(16.7)	(6.4)	(17.1)	(17.8)	(17.5)	(2.0)	(8.7)	無 無 無
		+7(ノビエ始~1葉)	300	0	0	0	t	0	0	0	0	
		+10(ノビエ1~2葉)	300	0	0	0	t	0	0	0	0	
		+15(ノビエ2~3葉)	300	0	0	0	0	0	1	0	0	
	植調愛媛 (昭和60年、早期)	(無処理区)	0	(29.1)	(0.5)	(0.8)	(2.4)	(4.6)	(11.8)	(7.2)	(21.6)	無 無 無
+5(ノビエ発生前)		300	0	0	0	t	t	0	15	0		
+8(ノビエ0.5葉)		300	0	0	0	4	2	t	10	t		
		+8(ノビエ2.5葉)	300	t	0	0	12	4	0	8	5	

t: trace (1%未満の残草)

プロモブチドの土壌中での主分解物は、いずれの土壌においても deBr-プロモブチドであり、その経時的変化をみると処理90日後に、13~39%と最高値に達し、以後急速に減少し、処理210日後には、1.3~8.6%となった。その他の分解物として、*t*-ブチル基、ジメチルベンジル位のメチル基の酸化物やアミド結合の開裂物が認められた。これらの分解物は土壌中に長期間残留することなく最終的に CO₂ まで完全分解され、生成する CO₂ 量は処理後210日間で27~43%に達した。

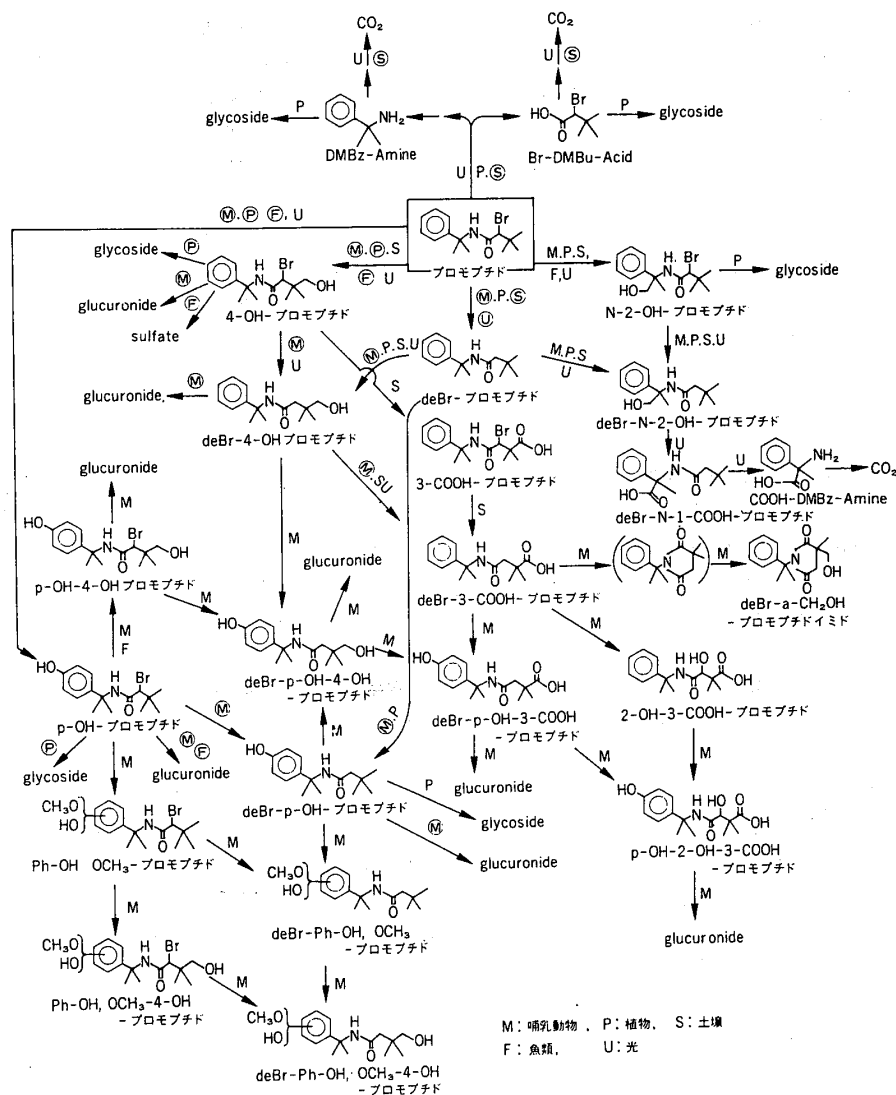
(2) 土壌中での移行性

25cmの土壌カラム上に、¹⁴C標識体を処理した土壌を添加し、これを1年間の雨量に相当する約1,400mmの水

を加え約1カ月かけて溶出させると、溶出液に0.5% (埴壤土)~11% (砂壤土)のプロモブチドが、また8.7% (砂壤土)~36% (埴壤土)の deBr-プロモブチドが溶出された。この様に、プロモブチドは土壌カラム中で主として deBr-プロモブチドに分解されながら移行することが明らかとなった³⁴⁾。

この移動度を、土壌薄層プレートを用いて、市販の9種の除草剤と比較したところ、プロモブチドおよび deBr-プロモブチドは、Helling らによる移動度の分類上³⁵⁾、最も移行性の少ない化合物群に入ることが判明した³⁶⁾。

更に、プロモブチドと deBr-プロモブチドの実用



第8図 動植物、光および土壌におけるプロモブチドの推定代謝経路 (丸印は主代謝分解経路)

場面での下方移行性並びに地下水への混入の可能性を明らかにするために、当社加西農場でプロモブチドを散布し、無水掘りによる土壌採取および地下水の採水を行なった。95日の試験期間中、プロモブチドおよび deBr-プロモブチドの大部分は、0~10cmの土壌表層部に残留しており、少量の deBr-プロモブチドは10~30cm層に検出されたが、それより下方での土壌並びに深さ150~180cmの地下水には両化合物はいずれの時点においても検出されなかった³⁴⁾。

従って、プロモブチドは除草活性という観点からすれば、土壌において適度な下方移行性を有していると言えるが、主分解物の deBr-プロモブチドと共に経時的に分解を受けるため、地下水を経て環境中に拡散することは極めて少ないと考えられる。

(3) 植物における代謝³⁷⁾

¹⁴C-プロモブチド水溶液を水田水として加えた水田土壌に移植した3葉期のイネ(金南風)を、温室内で収穫期まで栽培した。プロモブチドあるいは脱ブロム化された分解物は、水田水や土壌からイネに吸収される。収穫時のプロモブチドおよび deBr-プロモブチドの残留量は、精白米で各々 0.06および 0.20ppm と低かった。(第10表)。プロモブチドは植物によって、*t*-ブチル基メチル、ジメチルベンジル位メチルおよびフェニル基4位の水酸化、アミド結合の開裂、更にこれらの糖抱合体の形成を受けて代謝される。

(4) 魚での代謝、濃縮^{38, 39)}

¹⁴C-プロモブチドを 0.1ppm 含む流水中に、コイおよびヒメダカを曝露すると、魚体中の¹⁴Cの濃縮率は各々、約80および170倍、またプロモブチドのそれは、8および20倍であった。その後、これらを清水で飼育すると、¹⁴Cおよびプロモブチドは各々の半減期約2日お

び0.14日で急速に魚体から減少した。魚体中で、プロモブチドは *t*-ブチル基メチル、フェニル基4位の水酸化およびグルクロン酸並びに硫酸による抱合化を受けた。

コイを4週間プロモブチドに曝露した際、魚体中の濃縮率は曝露濃度に依存せず7倍であった。また、上記2試験において deBr-プロモブチドは検出されなかった。一方、水田にプロモブチドを散布した場合、コイ中のプロモブチドおよび deBr-プロモブチドの濃度は、水中の両化合物濃度に依存し、濃縮率は各々約10および3倍であった。

この様に、プロモブチド並びに deBr-プロモブチドの魚での濃縮率は低く、また、魚体中で容易に代謝を受け、排泄される。

(5) 水中における光分解⁴⁰⁾

汚濁滅菌した水田水、海水、蒸留水の¹⁴C-プロモブチド1ppm 溶液を太陽光に照射すると、プロモブチドの分解が促進され、半減期は各々約11、12および13週であった。光分解経路は主に脱ブロム化であり、他に、フェニル基の水酸化、ベンジル位メチル基の酸化、*t*-ブチル基メチルの酸化、ベンジル位 α 炭素-窒素結合の開裂、酸アミド結合の開裂、末端メチル基の脱水素であり、20種以上の光分解物を生成した。これらの化合物は蓄積することなく最終的に CO₂まで完全分解されることが明らかとなった。CO₂量は、光照射14週後に14~22%に達した。

(6) 水田圃場での挙動^{34, 39)}

プロモブチド6%粒剤を4kg/10aの割合で、水深5cmの水田に施用すると、田面水中のプロモブチド濃度は1~2日後に最高の1.7ppmに達した後、半減期5~7日で減少した。一方、deBr-プロモブチドは10日目に最高の0.09~0.15ppmに達するが、落水直前の78日後には0.009ppmとなった。

2. 水生生物に対する毒性

プロモブチドの魚類、甲殻類、貝類および藻類に対する半数致死濃度または生長阻害濃度を第11表に示す。プロモブチドは、いずれの生物に対しても急性毒性は弱くその製剤もコイ、ミジンコに対し低毒性であった⁴¹⁻⁴³⁾。

亜急性的影響を明らかにするために、コイをプロモブチドを0.2、1.0、4.0ppm 含む流水に4週間曝露後、清水で4週間飼育した。その結果、いずれの濃度および期間においても体重増加、血液性状、内臓状態並びに骨格に関して何らの異常も認めなかった。更に、コイを放養している水田にプロモブチド6%粒剤を4kg/10aの割合で散布したところ、21日の観察期間中魚の死亡や異常挙動は認められなかった³⁹⁾。

第10表 プロモブチドの玄米での残留量

試験	施用量	散布回数	経過日数	部位	残留量 (ppm)	
					プロモブチド	de, Br-プロモブチド
温室	14C標識体 5ppm 田面水処理		150	玄米	0.10 ^{※1}	0.27 ^{※1}
				精白米	0.06	0.20
				もみ	0.64	1.62
				種皮	1.10	2.27
				胚	0.44	1.27
圃場 ^{※2}	6%粒剤 4kg/10a	1	100	玄米	0.01	0.13
圃場 ^{※2}	6%粒剤 4kg/10a	1	86	玄米	0.02	0.17

※1 玄米中の残留量は、各分画の重量、放射能量より算出した値

※2 2ヵ所の分析機関の分析値での最高残留量

第11表 プロモブチド及びdeBr-プロモブチドの水生生物に対する毒性

生 物	48hr LC50 (mg/l)	
	プロモブチド	deBr-プロモブチド
魚 類		
コイ	>10	—
ヒメダカ		>10
胚	>10	>10
後期仔魚	>10	>10
稚魚	>10	>10
成魚	>10	>10
甲殻類		
ミジンコ	>10 ^{※1}	—
スジエビ	>1	>10
貝 類		
サカマキガイ	>5	>10
藻 類 ^{※2}		
<i>Chlorella vulgaris</i>	>25	>50
<i>Selenastrum minutum</i>	>25	>50

※1 24hr LC50

※2 生長に対する阻害濃度 (EC50)

プロモブチド、deBr-プロモブチド、光分解物および土壌分解物の水生生物に対する毒性は弱く、田面水中のプロモブチドおよびその deBr-プロモブチドの濃度は最高で各々1.7および0.2ppm 程度で、生物を含めた水系に長期に残留しないため、プロモブチドを散布しても水田に生息する水生生物並びに落水により水田水が流入する河川に生息する生物に悪影響を及ぼすことは少ないと考えられる。

3. 残 留

(1) 作物残留⁴⁴⁾

「農業の作物残留試験実施要領」に従って実施したプロモブチドの玄米における残留量は、0.01~0.02ppm であった (第10表)。他方、deBr-プロモブチドは親化合物より数倍高い残留量を示した。しかし、これらの値は温室内で実施したイネでの代謝試験で得られた値より約10倍低かった。これは、圃場での種々な要因により分解されたため、圃場では残留量が低くなったものと考えられる。

(2) 土壌残留⁴⁵⁾

プロモブチド8%粒剤を4kg/10aの割合で水田に散布した場合、3日後には土壌に約4ppm 残留し、以後6~8日の半減期で減少し、また、deBr-プロモブチドの残留量は最高で約0.4ppmであった。プロモブチドの圃場での半減期は、¹⁴C標識体を用いた実験室内での分解試験の値よりかなり短く、deBr-プロモブチドの生成量も若干少なくなっている。これらは作物残留分析試験結果と同様で、圃場における種々な分解消失要因が、圃場で

の減衰を促進しているものと思われる。

4. 環境中での挙動と

水系環境に及ぼす影響のプロフィール

上述した様に、プロモブチドは太陽光、土壌および土壌微生物、植物並びに水生生物によって容易に分解され、環境中に長期に残留することはない。また、分解物も更に分解を受け、最終的に完全に無機化される。圃場での挙動も考慮すれば、プロモブチドおよび生分解物である deBr-プロモブチドの水系環境に及ぼす影響は非常に少ないと結論される。

5. 哺乳動物における代謝

プロモブチドの哺乳動物における体内動態を調べるため、¹⁴C標識プロモブチドをSD系雌雄ラットおよびICR系雌雄マウスに投与し、¹⁴Cの排泄、代謝、組織への残留性、蓄積性等につき検討を加えた。また、プロモブチドの土壌中での主分解物で、イネに取込まれる deBr-プロモブチドについても、その安全性を評価するため、プロモブチドと同様の検討を行なった。

(1) プロモブチドの代謝^{46,47)}

SD系雌雄ラットに、¹⁴C標識プロモブチドをコーンオイルに溶解して5mg/kgの割合で1回経口投与すると、投与した¹⁴Cの50~70%が投与後24時間以内に、ほぼ100% (糞58~65%, 尿33~41%) が投与後7日間に排泄された。呼吸への排泄¹⁴Cは投与量の0.2%未満であった。投与後7日目の臓器組織に残留する¹⁴C濃度は低く、いずれも0.2ppm以下であった。採取した胆汁、尿および糞から27種類の代謝物を単離し、同定した。この結果、主な代謝は、芳香環の水酸化、*o*-ブチル基の酸化、脱ブロム化およびグルクロン酸抱合化であることが判明した (第8図)。胆汁中には、芳香環や*o*-ブチル基の酸化物のグルクロン酸抱合体が多量に排泄され、これらが腸肝循環していたが、7日目の残留値が極めて低いことから、これらは更に代謝されて糞および尿中に排泄されると考えられた。また、プロモブチドの¹⁴C標識体を5mg/kg/日の割合で14日間連続して強制経口投与すると、組織に分布する¹⁴C濃度は、投与開始後6~10日間ではほぼ定常状態となり、投与終了後速やかに低下した。この結果は、プロモブチドやその代謝物の蓄積性や残留性が低いことを示している。

ICR系雌雄マウスに、¹⁴C標識プロモブチドを、ラットと同様5mg/kgの割合で1回経口投与すると、¹⁴Cは70~90%が投与後24時間以内に排泄され、投与後7日目の臓器組織に残留する¹⁴C濃度は0.1ppm以下であった。¹⁴C排泄速度はラットに比べ速く、組織残留¹⁴C濃度はラットに比べ低かった。投与した¹⁴C量の70

～80%に当たる代謝物を同定し、主要代謝経路はラットと同様であることを確めた。ラットとマウスでは、プロモブチドの代謝に関して若干の差が認められたものの、いずれの種においてもプロモブチドは速やかに代謝された後、ほぼ全量が排泄され、臓器組織への蓄積性や残留性は極めて低いことが判明した。

(2) deBr-プロモブチドの代謝^{48, 49)}

プロモブチドのラットおよびマウスにおける代謝研究の結果、糞中に微量ながら deBr-プロモブチドが見出され、この代謝物が哺乳動物体内で生成されることが判明した。また、ラットにおけるプロモブチドの初期代謝を調べた結果、投与したプロモブチドの9～12%は deBr-プロモブチドを経て代謝されることが明らかとなった。更に、¹⁴C 標識 deBr-プロモブチドを SD 系ラットおよびICR系マウスに1回または14日間連続して経口投与した際に排泄された糞および尿中の代謝物のうち、投与した¹⁴Cの70～80%に相当する代謝物を同定した結果、これらの代謝物はいずれもプロモブチドを投与した際にも排泄された代謝物であることが判明した。これらの結果は、deBr-プロモブチドがプロモブチドの主代謝物の一つで、deBr-プロモブチドの代謝経路はプロモブチドのそれに完全に包含されることを示唆している。deBr-プロモブチドは、プロモブチドに比べ排泄速度が速く、組織残留¹⁴C濃度は低かった。また蓄積性や残留性は認められなかった。次に、プロモブチドと deBr-プロモブチドの1対5混合物の連続経口投与実験を行なった。この結果、プロモブチドおよび deBr-プロモブチドは、各々の代謝に対して互いに影響を与えないことが判明した。

以上の結果から、deBr-プロモブチドの毒性は、プロモブチドについて行なわれた毒性試験の結果に十分反映されていることが明らかになった。

6. 哺乳動物に対する毒性⁵⁰⁻⁵³⁾

(1) 急性毒性⁵⁰⁻⁵⁷⁾

プロモブチドを10% Tween 80水溶液に懸濁し、SD系雌雄ラットおよびdd系雌雄マウスに経口経皮、皮下および腹腔内投与して急性毒性を調べた。その結果、プロモブチドのラットおよびマウスにおけるLD₅₀値は、性別、投与法を問わず、いずれも5,000mg/kg以上であり、急性毒性は極めて低いことが判明した(第12表)。

また、経口投与による急性中毒症状として、軽度の鎮静作用が認められたが、投与後1～2日で回復した。

また、SD系雌雄ラットを用いてプロモブチドの急性吸入毒性を調べた。実験可能な最大噴射量である

第12表 プロモブチドの哺乳動物に対する急性毒性試験⁵⁰⁻⁵³⁾

動物種、系統	投与経路	溶 媒	LD ₅₀ (mg/kg)
マウス ddY	経口	10% Tween80	>5000 (♂♀)
		10% Tween80	>5000 (♂♀)
		10% Tween80	>5000 (♂♀)
ラット SD	経口	10% Tween80	>5000 (♂♀)
		10% Tween80	>5000 (♂♀)
		10% Tween80	>5000 (♂♀)
	皮下	10% Tween80	約5000 (♂), >5000 (♀)
	腹腔内吸入	10% Tween80	LC ₅₀ >327mg/m ³ (♂♀)

327mg/m³, 平均粒子径1.20μmの空气中に4時間曝露しても、死亡例や中毒症状は認められなかった(第12表)。

プロモブチドのイネ中の代謝物として検出された deBr-プロモブチド、DMBz-Amine ならびに原体中の不純物である deBr-プロモブチドの、dd系雌雄マウスに対する経口急性毒性を調べた。LD₅₀ 値を第13表に示した。いずれの化合物も急性毒性は低く、普通物に相当することが判明した。

(2) 変異原性⁵⁸⁻⁶⁴⁾

第14表に示す如く、RecA Assay法、Ames test、および小核試験で、プロモブチドは陰性を示し、変異原性はないと判断された。

deBr-プロモブチド、DMBz-Amine、および diBr-プロモブチドは Ames test で陰性を示し、変異原性はないと判断された。

(3) 刺激・アレルギー性^{65, 66)}

日本白色雄ウサギを用い、眼および皮膚に対する刺激性を調べた。眼に100mgのプロモブチドを適用すると、軽度の刺激性が認められるが、洗浄すれば認められず、また皮膚に対する刺激性はなかった。

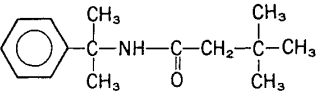
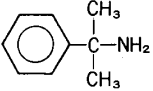
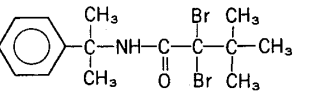
Hartley系雄モルモットにおける皮膚アレルギー性は陰性であった。

(4) 次世代に及ぼす影響^{67, 68)}

(i) 催奇性^{67, 68)}

プロモブチドを1% CMC水溶液に懸濁し、10, 100および1,000mg/kgの割合で Wistar系妊娠ラットおよび日本白色妊娠ウサギに、それぞれの胎子の器官形成期に当たる妊娠6日から15日まで、および妊娠6日から18日まで毎日1回経口投与し、プロモブチドの催奇性を調べた。ラットにおいては、母動物に体重増加抑制や摂餌量の低値のみられた確実中毒量(1,000mg/kg)においても胎子の生存と発育に対する影響は認められず、ウサギにおいても、技術的に投与可能な限界量である1,000mg/kgまで投与しても胎子の生存と発育に対す

第13表 プロモブチド代謝物および原体不純物の急性毒性および変異原性^{54-57, 61-64)}

構造式	代謝物	原体不純物	純度 (%)	マウス経口投与 LD ₅₀ mg/kg	変異原性 (復帰突然変異性試験)
 (deBr-プロモブチド)	○	○	100	雄: >5,000 雌: >5,000	陰性
 (DMBz-Amine)	○	—	99	雄: 450 雌: 635	陰性
 (diBr-プロモブチド)	—	○	99	雄: >5,000 雌: >5,000	陰性

第14表 プロモブチドの変異原性試験⁵⁸⁻⁶⁰⁾

試験	生物種	実験条件(濃度など)	結果
Rec Assay	枯草菌	10, 50, 100, 500, 1000, 2500 μg/プレート	陰性 ⁶³⁾
Ames test	サルモネラ菌	10, 50, 100, 500, 1000, 2500 μg/プレート S-9Mix無添加および添加	陰性 ^{62, 63)}
	大腸菌	10, 50, 100, 500, 1000, 2500 μg/プレート S-9Mix無添加および添加	陰性 ^{62, 63)}
小核試験	マウス骨髓細胞	1250, 2500, 5000mg/kg 腹腔内投与	陰性 ⁶⁴⁾

第15表 プロモブチドの次世代に及ぼす影響試験⁶⁷⁻⁶⁹⁾

試験	動物種, 系統	投与量	投与期間	最大無作用量
催奇性	ラット Wistar	10, 100, 1000 (mg/kg)	妊娠 6日~15日	1000mg/kg で胎仔毒性、催奇性ともに認められない。 ⁶⁷⁾
	ウサギ 日本白色種	10, 100, 1000 (mg/kg)	妊娠 6日~18日	同上 ⁶⁸⁾
二世世代繁殖性	ラット Wistar	50, 300, 1800 (ppm)	F ₀ ... 5週齢から第2産仔離乳まで。交配前13週間。 F ₁ ... F ₀ と同様。交配前14週間。 F ₂ ... 離乳後13週齢まで。	1800ppmで繁殖性に影響はない。 ⁶⁹⁾

る影響は認められなかったことから、プロモブチドには催奇性はないと判断された(第15表)。

(ii) 繁殖性⁶⁹⁾

Wistar系雌雄ラットに、プロモブチドを50, 300および1,800ppm含有する飼料を摂食させ、二世世代(F₀, F₁, F₂)にわたる繁殖性をみた。生殖能力に及ぼす影響は、最高濃度(1,800ppm)においても認められなかった(第15表)。

(5) 亜急性毒性⁷⁰⁾

Fischer 344系雌雄ラットに、プロモブチドを100, 300, 1,000および3,000ppm含有した飼料を3カ月間摂食させ、臨床症状観察、体重変化、摂餌量および飲水量、尿検査、眼検査、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量測定、肉眼的病理および病理組織学的検査を実施して、プロモブチドの影響をみた。この結果、血液生化学的検査で肝に対する影響を示唆する酵素活性の低下が認められた。また、内容物を含む盲腸重量の増加や軽度な腎重量の増加がみられた。しかし、肝、盲腸、腎のいずれの臓器においても病理組織学的変化は認められないことから、プロモブチドにこれらの臓器組織に対する障害性はないと判断された(第16表)。

盲腸重量の増加は、抗生物質や塩類下剤でも起こることが知られているが、本剤の場合を含めその発生機序は不明である。盲腸組織に病理組織学的変化は認められず、下痢、軟便等の機能的な変化も認めていないため、この変化は毒性学的に重篤な変化とは考えられない。

第16表 プロモブチドの亜急性・慢性毒性試験⁷⁰⁻⁷²⁾

試験	動物種, 系統	投与量(飼育中)	投与期間	無影響量
亜急性	ラット F344	100, 300, 1000, 3000 ppm	3ヶ月	100 ppmで影響が認められた。 ⁷⁰⁾
慢性・発癌性	ラット F344	50, 250, 1250 ppm	24ヶ月	♂ 1.73 mg/kg/日 (50 ppm) ⁷¹⁾ ♀ 2.07 mg/kg/日 (50 ppm)
	マウス ICR	50, 250, 1250 ppm	24ヶ月	♂ 20.9 mg/kg/日 (250 ppm) ⁷²⁾ ♀ 107 mg/kg/日 (1250 ppm)

(6) 慢性毒性・発癌性^{71, 72)}

Fischer 344系雌雄ラットに、プロモブチドを50, 250および1,250ppm含有する飼料を24カ月間給餌し、亜急性毒性試験と同様の諸検索を行なった。亜急性毒性試験と同様、肝、盲腸および腎に対する影響が認められた。しかし、いずれの組織に対しても障害性は認められず、50ppm投与群ではいかなる影響も認められなかった。また、いずれの臓器組織に対しても発癌性は認められなかった。最大無作用量は雄で1.73mg/kg/日、雌で2.07mg/kg/日と判定された。

ICR系雌雄マウスに、プロモブチドを50, 250および1,250ppm含有した飼料を24カ月間摂食させ、ラットと同様の諸検索を行なった。この結果、雄の1,250ppm投与群に盲腸の膨満が認められたが、その組織像はほぼ正常構築を保持しており、盲腸組織に対する障害性はないと考えられた。他に特記すべき影響はなく、発癌性もないことが判明した。最大無作用量は雄で20.9mg/kg/日、雌で107mg/kg/日と判定された。

7. 安全性のプロフィル

上記諸試験結果に基づいて、プロモブチドの安全性プロフィルを以下にまとめる。

プロモブチドの哺乳動物に対する急性毒性は非常に弱く、変異原性、皮膚刺激性および皮膚アレルギー性は認められない。眼に対する軽度の刺激性が認められたが、洗浄すれば認められない。繁殖性に影響を及ぼさず、催奇性もない。亜急性・慢性毒性試験の結果、肝、腎および盲腸に対する影響が認められたが、いずれの組織に対しても障害性を示唆する所見はみられなかった。また、プロモブチドに発癌性はなく、最大無作用量は、ラットで1.73mg/kg/日、マウスで20.9mg/kg/日と判定された。この量は、作物残留量および食品係数から算出した食物経由での推定ヒト摂取量(0.00125mg/kg/日)に比べ、十分大きいものである。(第17表)。

経口摂取したプロモブチドは、速やかに代謝されては

第17表 作物残留量(最高値)より算出した推定ヒト摂取量

作物	体重50kgのヒトの食品係数(g)	残留濃度(最高値*)(ppm)	ヒト摂取量(mg/ヒト/日)(mg/kg/日)	
水稲(玄米)	253	0.248	0.0627	0.00125

* プロモブチド最高値+deBr-プロモブチド最高値×1.34

ば全量が排泄され、体内に残留せず、連続的に摂取しても、プロモブチドおよびその代謝物は体内に蓄積しない。これらの代謝物は、植物(イネ)における主代謝物を含むため、上記諸毒性試験の結果は、植物経由で摂取される代謝物の諸毒性をも充分反映しているといえる。これらの中で、玄米中の残留量がプロモブチドより多い de Br-プロモブチドは、プロモブチドを投与した動物体内で生成するだけでなく、その代謝・排泄はプロモブチドより速く、また単独あるいはプロモブチドとの混合物を長期間投与しても蓄積性や残留性を示さない。

以上の結果から、プロモブチドの毒性は低く、製造あるいは散布時のみならず、長期間にわたって摂取される場合においても、特に懸念すべき点はないことが確認された。

また、プロモブチドは、太陽光、土壌および土壌微生物、植物、水生生物によって容易に分解され、環境中に長期間残留することなく最終的には完全に無機化されること、ならびに、プロモブチドおよび deBr-プロモブチドの水生生物に対する毒性が低いことから、プロモブチドが環境に対して悪影響を及ぼす可能性は少ないことが確認された。

おわりに

新農薬の開発研究は、本稿でその一部を紹介したように、多方面での検討が全てうまくいってこそ、成功するのはいうまでもない。

プロモブチドの研究開始当初、将来は水田多年生雑草が重要になるとの予測で、多年生防除をスクリーニングの重点項目とした。その中で、ホタルイに有効な key 化合物を見出したが、ホタルイは種子繁殖するので、将来重要度は増々大きくなるだろうとの確信のもとに、そのターゲットをさらに追求した。key 化合物の性能、効力をさらに高めるために、当時手掛け始めたコンピュータを用いた構造活性相関手法を駆使して、効率よく候補化合物を選定し、早期上市を目指した。

除草効力、葉害などの生物効果を全国の圃場試験で評価する一方、その安全性を調べるため、多項目にわたる実験が着手された。作物、動物、外部環境中での薬剤の

挙動が詳細に調べられ、その安全性を評価する基礎データとして役立てられた。特に、本剤が水稻用除草剤であることから、水系に及ぼす影響は精力的に検討され、その安全性が確認された。また、農薬の開発にとって、越えねばならぬ大きな山にもあたる、動物の毒性試験も、慢性毒性試験、催奇性試験、変異原性試験などの難関を特に悪い結果もなく、無事に越すことができ、その安全性が確かめられた。

一方、実用製剤処方検討、その基礎になる物性測定、分析法の確立などの地道な努力に、より経済性を求める工業的製造法の検討も、順調に進められた。これらの研究成果の末、プロモブチドの開発に至ったのである。

農薬の開発には長年月を要し、スクリーニングを始める時には、8-10年先を見越してターゲット選定せねばならない。本剤のように特徴ある剤は、将来の目測を誤ると大きなリスクを伴うものであるが、プロモブチド含有のいくつかの混合剤が農薬登録申請を完了し、また多くの会社より混合剤の相手として求められている今日、やっと開発成功の目途がたってきたといえよう。

本剤もまだ完成したのではなく、これから実使用にあたって種々の問題もでてくると思うが、それを乗り越えて一人前の除草剤に育てあげてゆく所存である。

なお1986年4月14日付でサリオ®粒剤、ノックワン®粒剤が農薬登録になった。

引用文献

- 1) C. Hansch and T. Fujita : J. Am. Chem. Soc., 86, 1616 (1964)
- 2) 藤田稔夫 : 農薬化学 1, 95 (1973)
- 3) O. Kirino, H. Oshita, T. Oishi and T. Kato : Agric. Biol. Chem., 44, 25 (1980)
- 4) O. Kirino, H. Oshita, T. Oishi and T. Kato : Agric. Biol. Chem., 44, 31 (1980)
- 5) O. Kirino, H. Oshita, T. Oishi and T. Kato : J. Pesticide Sci., 6, 59 (1981)
- 6) A. Fujinami, T. Satomi, A. Mine and T. Fujita : Pestic. Biochem. Physiol., 6, 287 (1976)
- 7) O. Kirino, K. Furuzawa, H. Matsumoto, N. Hino and A. Mine : Agric. Biol. Chem., 45, 2669 (1981)
- 8) 桐野修, 橋本俊一, 松本啓志, 大塩裕陸 特公昭 56-43455 (1981)
- 9) 桐野修 : 農薬誌 9, 571 (1984)
- 10) O. Kirino, K. Furuzawa, C. Takayama, H. Matsumoto and A. Mine : Abstr. Papers at Vth Int. Congr. Pestic. Chem. Kyoto, II-d-15, (1982)
- 11) O. Kirino, K. Furuzawa, C. Takayama, H. Matsumoto and A. Mine : J. Pesticide Sci., 8, 301 (1983)
- 12) O. Kirino, K. Furuzawa, C. Takayama and T. Mizutani : J. Pesticide Sci., 9, 181 (1984)
- 13) O. Kirino, S. Hashimoto, K. Furuzawa, C. Takayama and H. Ohshio : J. Pesticide Sci., 8, 315 (1983)
- 14) O. Kirino, K. Furuzawa, C. Takayama, H. Matsumoto and A. Mine : J. Pesticide Sci., 8, 309 (1983)
- 15) O. Kirino, Y. Suzuki, K. Yanagi, A. Sogabe and M. Minobe : J. Pesticide Sci., 8, 429 (1983)
- 16) S. Hashimoto, O. Kirino, K. Furuzawa and H. Ohshio : J. Pesticide Sci., 8, 493 (1983)
- 17) K. Bott and H. Hellmann : Angew. Chem., 78, 932 (1966)
- 18) 渡辺哲彦, 肥後昭男, 平井元, 特開昭57-206636 (1982)
- 19) A. C. Cope, T. T. Foster and P. H. Towle : J. Am. Chem. Soc., 71, 3929 (1949)
- 20) 肥後昭男, 渡辺哲彦, 鈴木幸雄, 平井元, 特開昭57-203049 (1982)
- 21) 木田進ら, 未発表
- 22) 辻孝三, 川島操子, 未発表
- 23) 日野修徳, 松本啓志, 嶺昭彦, 桐野修 : 雑草研究 26 (別号) 7 (1981)
- 24) 嶺昭彦, 松本啓志, 日野修徳 : 植物の化学調節 18 144 (1983)
- 25) 松本啓志, 日野修徳, 嶺昭彦 : 雑草研究 27 (別号) 53 (1982)
- 26) 松本啓志, 日野修徳, 嶺昭彦 : 雑草研究 26 (別号) 9 (1981)
- 27) 松本啓志, 三上信可 : 未発表
- 28) 日野修徳, 長野義久 : 未発表
- 29) 福岡県農業総合試験場, 水田作関係除草剤試験成績書 (1982, 1983)
- 30) 松本啓志, 日野修徳, 嶺昭彦, 三上信可 : 雑草研究 29 (別号) 181 (1984)
- 31) 松本啓志, 日野修徳, 嶺昭彦 : 雑草研究 29 (別号) 183 (1984)
- 32) 松本啓志 : 未発表
- 33) 日本植物調節剤研究協会 : 水稻作関係除草剤適用性試験成績概要 (1984, 1985)
- 34) 角田泰, 三上信可, 吉村淳, 松田正, 宮本純之 : 日本農薬学会第10回大会講演要旨集, No C-125 (1985)
- 35) C. S. Helling, P. C. Kearney and M. Alexander : adv. in agronomy, 23, 147 (1971)
- 36) 滝本善之, 清水美千代, 大嶋昌子, 山田宏彦, 宮本純之 : 未発表
- 37) 三上信可, 若林則子, 山田宏彦, 宮本純之 : 日本農薬学会第7回大会講演要旨集, No 209 (1982)
- 38) 滝本善之, 熊谷尚, 山田宏彦, 宮本純之 : 日本農薬学会第8回大会講演要旨集, No 336 (1983)
- 39) 滝本善之, 熊谷尚, 大嶋昌子, 芦田昭二, 宮本純之 : 日本農薬学会第10回大会講演要旨集, No C-210 (1985)
- 40) 高橋尚裕, 三上信可, 山田宏彦, 宮本純之 : 日本農薬学会第7回大会講演要旨集, No 214 (1982)
- 41) 滝本善之, 籠島通夫, 山田宏彦, 宮本純之 : 未発表
- 42) 萩野哲, 滝本善之, 山田宏彦, 宮本純之 : 未発表
- 43) 岡島一恵, 滝本善之, 山田宏彦, 宮本純之 : 未発表
- 44) 住友化学工業㈱ : 未発表
- 45) 大西純一, 鈴木克次, 山田宏彦, 宮本純之 : 日本農薬学会第9回大会講演要旨集, No B-104 (1984)
- 46) N. Isobe, M. Matsuo and J. Miyamoto : J. Pesticide Sci., 8, 451 (1983)
- 47) N. Isobe, M. Matsuo and J. Miyamoto : J. Pesticide Sci., 8, 551 (1983)
- 48) N. Isobe, M. Matsuo and J. Miyamoto : J. Pesticide Sci., 9, 105 (1984)
- 49) 磯部直彦, 柳田重美, 吉武彬, 松尾昌季, 宮本純之 : 日本農薬学会第10回大会講演要旨集, C108 (1985)
- 50) 瀬川富朗 (広島大学) : 未発表
- 51) 瀬川富朗 (広島大学) : 未発表
- 52) 西尾廣昭, 瀬川富朗 (広島大学) : 未発表
- 53) 鴫田弘行, 川口忍, 山田倫行, 宮本純之 (住友化学) : 未発表
- 54) 広森寿彦, 細川俊治, 宮本純之 (住友化学) : 未発表

- 55) 澤瀉久方, 原進一郎, 宇和川賢, 鈴木隆, 松尾昌季, 宮本純之(住友化学): 未発表
- 56) 澤瀉久方, 原進一郎, 井上忠志, 鈴木隆, 松尾昌季(住友化学): 未発表
- 57) 三崎義則, 鈴木隆, 門田忠臣, 宮本純之(住友化学): 未発表
- 58) 鈴木隆, 原正樹, 出雲崎はるひ, 宮本純之(住友化学): 未発表
- 59) 森谷正明, 太田敏博, 白須泰彦(残留農薬研究所): 未発表
- 60) 鈴木隆, 原正樹, 宮本純之(住友化学): 未発表
- 61) 原正樹, 出雲崎はるひ, 宮本純之(住友化学): 未発表
- 62) 小木曾重文, 原正樹, 川口はるひ, 吉武彬, 宮本純之(住友化学): 未発表
- 63) 小木曾重文, 原正樹, 川口はるひ, 吉武彬, 宮本純之(住友化学): 未発表
- 64) 小木曾重文, 原正樹, 川口はるひ, 吉武彬, 宮本純之(住友化学): 未発表
- 65) 松原利行, 原進一郎, 鈴木隆, 門田忠臣, 宮本純之(住友化学): 未発表
- 66) 鈴木隆, 原進一郎, 門田忠臣, 宮本純之(住友化学): 未発表
- 67) 金田昌博, 藤井咲子, 寺本昭二, 白須泰彦(残留農薬研究所): 未発表
- 68) 青山博昭, 寺本昭二, 白須泰彦(残留農薬研究所): 未発表
- 69) 鈴木利紀子, 青山博昭, 真板敬三, 寺本昭二, 白須泰彦(残留農薬研究所): 未発表
- 70) 村上仁一, 吉岡薫, 奥野泰由, 関高樹, 細川俊治, 宮本純之(住友化学), 福島昭治(名古屋市大): 未発表
- 71) 原田孝則, 海老野耕一, 津田修治, 三森国敏, 白須泰彦(残留農薬研究所): 未発表
- 72) 原田孝則, 海老野耕一, 津田修治, 高橋公正, 白須泰彦(残留農薬研究所): 未発表
- 73) 千坂英雄: 雑草研究 15 16 (1973)

